

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

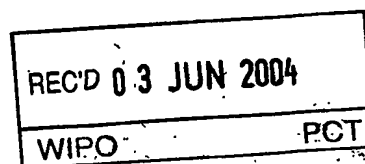
09.4.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2003年 4月 9日

出願番号
Application Number: 特願2003-105903
[ST. 10/C]: [JP2003-105903]



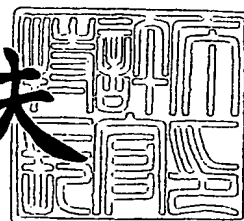
出願人
Applicant(s): フィリップス ハイドロコロイド リサーチ リミテッド
三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 5月20日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 2352003JP

【提出日】 平成15年 4月 9日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A23L 1/05

【発明者】

【住所又は居所】 イギリス国 レクサム ペンターブロートン エルエル
11 6 ビーイーハイフィールド ステーションロード
8

【氏名】 サファン アルアサーフ

【発明者】

【住所又は居所】 イギリス国 ロンドン ダブリュ1エス 4エーキュー
オールドボンドストリート 45 フィリップス ハ
イドロコロイド リサーチ リミテッド

【氏名】 グリン オーエン フィリップス

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府豊中市三和町1丁目1番11号 三栄源エフ・エ
フ・アイ株式会社内

【氏名】 佐々木 泰司

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府豊中市三和町1丁目1番11号 三栄源エフ・エ
フ・アイ株式会社内

【氏名】 片山 豪

【特許出願人】

【住所又は居所】 イギリス国 ロンドン ダブリュ 1 エス 4 エーキュー
オールドボンドストリート 45

【住所又は居所原語表記】 45 Old Bond Street, London W1S 4AQ, U.K.

【氏名又は名称】 フィリップス ハイドロコロイド リサーチ リミテッ
ド

【氏名又は名称原語表記】 Phillips Hydrocolloids Research Limited

【代表者】 グリン オーエン フィリップス

【特許出願人】

【識別番号】 000175283

【氏名又は名称】 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

【代理人】

【識別番号】 100065215

【弁理士】

【氏名又は名称】 三枝 英二

【電話番号】 06-6203-0941

【選任した代理人】

【識別番号】 100076510

【弁理士】

【氏名又は名称】 掛樋 悠路

【選任した代理人】

【識別番号】 100086427

【弁理士】

【氏名又は名称】 小原 健志

【選任した代理人】

【識別番号】 100090066

【弁理士】

【氏名又は名称】 中川 博司

【選任した代理人】

【識別番号】 100094101

【弁理士】

【氏名又は名称】 舘 泰光

【選任した代理人】

【識別番号】 100099988

【弁理士】

【氏名又は名称】 斎藤 健治

【選任した代理人】

【識別番号】 100105821

【弁理士】

【氏名又は名称】 藤井 淳

【選任した代理人】

【識別番号】 100099911

【弁理士】

【氏名又は名称】 関 仁士

【選任した代理人】

【識別番号】 100108084

【弁理士】

【氏名又は名称】 中野 睦子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001616

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9708179

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 改質アラビアガムおよびその用途

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 総食物繊維含量（AOAC法）が 90%以上である水溶性の改質アラビアガム。

【請求項 2】 重量平均分子量が 100 万以上である請求項 1 に記載の改質アラビアガム。

【請求項 3】 アラビアガムを加熱することによって得られるものである請求項 1 または 2 に記載の改質アラビアガム。

【請求項 4】 *Acacia senegal* 種に由来する請求項 1 乃至 3 のいずれかに記載の改質アラビアガム。

【請求項 5】 請求項 1 乃至 4 のいずれかに記載する改質アラビアガムからなるかまたは該改質アラビアガムを含有する食品または医薬品用の食物繊維原料。

【請求項 6】 請求項 1 乃至 4 のいずれかに記載する改質アラビアガムを食物繊維原料として含有する飲食物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、改質されたアラビアガムに関する。より詳細には、本発明は高い総食物繊維含量を有するように改質されたアラビアガムに関する。

【0002】

【従来の技術】

アラビアガムは、マメ科アカシア属に属する植物（アカシア：特に *Acacia senegal* 及び *Acacia seyal*）の幹や枝から得られるゴム状の滲出液を乾燥して調製される天然樹脂である。アラビアガムは水に高濃度で溶解し、その水溶液は比較的低濃度で、強い乳化安定性と保護コロイド性、及びフィルム形成性を有することから、従来から広く乳化剤、増粘剤、安定剤また皮膜剤として利用されている。さらに、アラビアガムはヒト消化酵素によって消化されることのない食物繊維を含んでおり、その含有量は酵素-HPLC法によると 80～90%（例えば、非

特許文献1参照のこと)、AOAC法によると85%及びENGLYST法によると70%以上である(例えば、非特許文献2参照のこと)が知られている。

【0003】

近年、日本人の食生活の欧米化に伴い、食物繊維の不足と糖尿病、肥満及び動脈硬化などの生活習慣病の増加とその関連性が多くの研究者から指摘されるようになり、食物繊維の生理機能が注目され、また食物繊維の摂取の必要性が唱えられている。アラビアガムは、他の食物繊維である高分子多糖類に比べて、極めて粘度が低く高濃度での使用が可能で、安全性に優れているという特徴を備えている。このため、飲料などの食品に添加してももとの食感を損なうことなく、食物繊維を多量に摂取するには有用な素材である。

【0004】

このため、アラビアガムを食物繊維として利用した食品の開発が求められ、進められているのが現状である。

【0005】

【非特許文献1】 月刊フードケミカル 2002-6, p85-89

【0006】

【非特許文献2】 月刊フードケミカル 1997-7, p102-104

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、アラビアガムを食物繊維として利用した食品の開発を目指して、食物繊維、特に総食物繊維をより多く含むようにアラビアガムを改質してなるアラビアガム(改質アラビアガム)を提供することを目的とする。さらに本発明はかかる改質アラビアガムを食物繊維として用いた飲食物を提供することを目的とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねていたところ、天然から得られるアラビアガム(Acacia senegal種またはAcacia seyal種に属するアラビアガム)を特定条件で加熱処理することによって総食物繊維含量を増加させるこ

とができることを見いだした。本発明は、かかる知見に基づくものであり、下記の態様を含むものである。

項 1. 総食物繊維含量 (AOAC 法) が 90% 以上である水溶性の改質アラビアガム。

項 2. 重量平均分子量が 100 万以上である項 1 記載の改質アラビアガム。

項 3. 食品または医薬品の食物繊維原料として用いられる項 1 または 2 に記載される改質アラビアガム。

項 4. 食品または医薬品の食物繊維強化用添加物として用いられる項 1 または 2 に記載される改質アラビアガム。

項 5. アラビアガムを加熱することによって得られるものである項 1 乃至 4 のいずれかに記載の改質アラビアガム。

項 6. アラビアガムを 110℃ で 24 時間以上加熱することによって得られるものである項 5 に記載の改質アラビアガム。

項 7. *Acacia senegal* 種に由来する項 1 乃至 6 のいずれかに記載の改質アラビアガム。

項 8. 項 1 乃至 7 のいずれかに記載する改質アラビアガムからなるか、または当該改質アラビアガムを含有する食品または経口医薬品用の食物繊維原料。

項 9. 項 1 乃至 7 のいずれかに記載する改質アラビアガムを、食品または経口医薬品の食物繊維原料として使用する方法。

項 10. 項 1 乃至 7 のいずれかに記載する改質アラビアガムからなるか、または当該改質アラビアガムを含有する食品または経口医薬品用の食物繊維強化剤。

項 11. 項 1 乃至 7 のいずれかに記載する改質アラビアガムを、食品または経口医薬品の食物繊維強化剤として使用する方法。

項 12. 項 1 乃至 7 のいずれかに記載する改質アラビアガムを食物繊維原料として含有する飲食物。

項 13. 項 1 乃至 7 のいずれかに記載する改質アラビアガムを食物繊維原料として含有する食物繊維含量が増強されてなる飲食物。

項 14. 項 1 乃至 7 のいずれかに記載する改質アラビアガムを食物繊維原料として配合して飲食物を製造することを特徴とする、飲食物の食物繊維含量の増強方

法。

【0009】

【発明の実施の形態】

(1) 改質アラビアガム

本発明の改質アラビアガムは、改質アラビアガム100重量%中に総食物繊維(AOAC法)を90%以上の割合で含有することを特徴とするものである。

【0010】

ここで総食物繊維とは、体内に摂取したときに、人の消化酵素によって加水分解されない難消化性の多糖類及びリグニンを意味する。本発明の改質アラビアガム中に含まれている総食物繊維の量は、食物繊維定量法として規定されているProsky法(AOAC公定法:CEREAL FOODS CHAPTER 32 (2000), p.7-12 "AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS", AOAC official method 991.43、または改訂新版「食物繊維」平成7年5月20日発行、p.46-58参照)に従って求めることができる。Prosky法は、対象試料中に含まれる総食物繊維含量(水溶性食物繊維と不溶性食物繊維を含む)を定量する方法である。具体的には、試料1g(固形物)を耐熱性 α -アミラーゼ、プロテアーゼ、及びアミログルコシダーゼで段階的に処理し、デンプン及び蛋白質を加水分解した後、反応液に4倍量のエタノールを加えて水溶性食物繊維と不溶性食物繊維を包括的に沈殿させ、濾過して残渣を回収し、エタノール及びアセトンで洗浄後、乾燥後重量をはかり、次いで得られた乾燥残渣重量から非消化性蛋白質量と灰分量を差し引くことによって、試料中の総食物繊維含量を求めることができる。なお、改質アラビアガム等の対象試料中の総食物繊維含量は、簡便には、例えば日本バイオコン株式会社から販売されている「総食物繊維測定キット」を用いて測定することができる。

【0011】

本発明の改質アラビアガムは、斯くして求められる総食物繊維含量が90%以上、好ましくは91重量%以上、より好ましくは93重量%以上であることを特徴とする。その上限は改質アラビアガムが水溶性である限りにおいて特に制限されない。

【0012】

ここで、「水溶性」とは、過分量の水（イオン交換水やイオンを含む水の別を問わない。また水温は溶解する温度を用いればよく水温の別を問わない。）にはほぼ完全に溶解する性質をいう。なお、一旦ヒドロゲル状になったアラビアガムは、水量を多くしても加温しても水に溶解しない。ゆえに、本発明でいう「水溶性」とは、水に溶解しないヒドロゲル状のアラビアガムと区別する意味で用いられる。言い換えれば、本発明の改質アラビアガムは、ヒドロゲル等のように水中で溶解しない高分子状態の改質アラビアガムを実質上含有しないものである。

【0013】

さらにまた本発明の改質アラビアガムは、上記の割合で総食物繊維を含有し、全体として水溶性であって、さらに改質前のアラビアガム原料と免疫学的反応性において同等もしくは類似していることが好ましい。なお、ここで「アラビアガム原料と免疫学的反応性において同等もしくは類似する」とは、アラビアガムを定量可能な抗体（SYCC7）を用いた間接的競合ELISA法〔Thurston, M. I, et al., Detection of gum from *Acacia seyal* and species of *combretum* in mixtures with *A. senegal* using monoclonal antibodies, Food & Agric. Immunol., 10 : 237-241(1998)、Thurston, M. I, et al., Effect of heat and pH on carbohydrate epitopes from *Acacia senegal* by specific monoclonal antibodies, Food & Agric. Immunol., 11 : 145-153(1999)〕において、アラビアガム原料と免疫学的阻害率の差が±10%以内であることを意味する。

【0014】

なお本発明の改質アラビアガムは、その形状を特に制限するものではなく、塊状物、玉状物、粗粉碎物、顆粒状、粒状、及び粉末状のいずれの形状をも有することができる。

【0015】

本発明の改質アラビアガムは、原料として用いる *Acacia senegal* 種に属するアラビアガムまたは *Acacia seyal* 種に属するアラビアガムをオープンなどの恒温器を用いて 110℃で24時間以上加熱することによって調製することができる。

【0016】

ここで原料となるアラビアガム（以下、「アラビアガム原料（*A. senegal*種）

」、または「アラビアガム原料 (A. seyal種)」という。またこれらを総称して「アラビアガム原料」ともいう。) は、マメ科植物であるアカシア属に属するアカシア・セネガル (Acacia senegal)、アカシア・セイアル (Acacia seyal)、またはこれらの同属植物の幹や枝から得られるゴム状の滲出液を乾燥して調製される天然樹脂 (多糖類) である。または、これらをさらに精製処理、脱塩処理または粉碎もしくはドライスプレー等の加工処理を施したものであってもよい。

【0017】

アラビアガム原料は、通常、エチオピアからセネガルにかけての北アフリカや西アフリカの各国 (エチオピア、スーダン、セネガル、ナイジェリア、ニジェール、ガーナ)、ケニアやウガンダなど東アフリカの国々、アフリカのサハラ地帯、並びにナイル川支流の盆地地帯でも産出されるが、本発明においてはその由来を問うことなく、いずれの産地由来のものであってもよい。

【0018】

また、アラビアガム原料は、その水分含量を特に制限するものではない。通常商業的に入手可能なアラビアガム原料は、105℃で6時間加温乾燥することによって減少する水分量 (乾燥減量) が40重量%以下、好ましくは30重量%以下、特に好ましくは20重量%以下である。本発明においてもかかる水分含量 (乾燥減量) を有するアラビアガム原料を任意に用いることができる。

【0019】

また、通常アラビアガム原料は、塊状物、玉状物、粗粉碎物、顆粒状、粒状、または粉末状 (スプレードライ粉末を含む) の形態で入手することができるが、本発明ではこれらの形状を問わず、いずれの形態のものをも改質処理対象の原料として使用することができる。例えば、平均粒子径が数十～数百 μm 程度のスプレードライ粉末状物であってもよい。平均粒子径の上限は特に制限されないが、改質効率の点から100mm以下であることが望ましい。好ましくは平均粒子径が1～100mm、より好ましくは2～50mmの範囲である。

【0020】

かかるアラビアガム原料の加熱方法としては、上記するように具体的にはオーブン (恒温器) を用いて110℃で24時間以上加熱する方法を例示することが

できる。好ましくは 110℃ で 48 時間以上の加熱処理である。処理するアラビアガム原料やその種類（「A. senegal 種」や「A. seyal 種」の別）にもよるが、110℃ で加熱する場合、時間の上限としては 72 時間程度を挙げることができる。なお、本発明で規定する特定の総食物繊維含量を有する水溶性の改質アラビアガムが取得できる方法であれば、加熱温度、加熱時間、加熱手段並びに加熱環境条件（相対湿度や閉鎖系の有無）は任意に選択使用することができ、上記加熱条件に特に制限されるものではない。例えば、上記条件での加熱処理によって得られる本発明の効果は、110℃ よりも低温で 24 時間よりも長時間加熱処理する方法や、110℃ よりも高温で短時間加熱処理する方法によっても同様に得ることができる。具体的には、前者の例として 80℃ で 3 日～2 週間以上かけて加熱する方法を挙げることができる。なお、上記オープンによる加熱手段に代えてマイクロ波照射によれば、より短時間に同様な効果を得ることができる。その他、窒素置換条件下など、酸素のない条件下での加熱処理は、生成されるアラビアガムの着色を抑制することができるので、好ましい処理方法である。

【0021】

さらに本発明の改質アラビアガムは、アラビアガム原料として「A. senegal 種」のものをを用いる場合は、特に重量平均分子量が 100 万以上を有するものであることが望ましい。

【0022】

ここで重量平均分子量は、光散乱検出器（MALLS: Multi Angle Laser Light Scattering）、屈折率（RI）検出器及び UV 検出器の 3 つの検出器をオンラインで接続したゲル濾過クロマトグラフィー（GPC-MALLS）の手法によって求めることができる。なお、当該 GPC-MALLS 手法によれば、光散乱検出器（MALLS）により分子量を、屈折率（RI）検出器により各成分の重量（組成比）を、さらに UV 検出器により蛋白質を検出することができ、分子量既知の標準品と対比することなく分析成分の分子量並びに組成を求めることができる。その詳細な原理や特徴は、「Idris, O. H. M., Williams, P. A., Phillips, G. O., ; Food Hydrocolloids, 12, 375 - 388 (1998)」に記載されている。

【0023】

本発明で採用されるGPC-MALLSの測定条件は下記の通りである：

カラム : Superose(6HR) 10/30 (Pharmacia Biotech, Sweden)

流速 : 0.5 ml/分

溶出溶媒 : 0.2 M NaCl

試料の調製：分析試料を溶出溶媒 (0.2M NaCl) にて希釈

試料濃度 : 0.4 % (W/V)

試料液注入量 : 100 μ l

dn/dc : 0.141

温度 : 室温

検出器 : ① MALLS (multi angle laser light scattering) : DAWN DSP (Wyatt Technology 社製, 米国)、② RI (屈折率)、③ UV (214nmでの吸収)

。

【0024】

上記条件で測定して得られたデータをASTRA Version 4.5 (Wyatt Technology) ソフトウェアにて処理することにより、重量平均分子量、回収率 (%Mass)、多分散性値 (P)、慣性自乗半径 (R_g) のアラビアガム成分の各種パラメーターを求めることができる。RI検出器によって求められたクロマトグラム上のチャート全体 (「チャートのベースラインを基線としてRIチャートの立ち上がり部を起点及び降下して基線と交わった部分を終点とした場合に、当該起点から終点までのチャート部を意味する。」) を1ピークとしてデータ処理した場合 (processed as one peak) に、得られた分子量が本発明でいう「重量平均分子量」 (より詳細には「重量平均分子量 (M_{wt} processed as one peak) 」) である。

【0025】

例えば、一例として粗挽きしたアラビアガム原料 (A. senegal種) (球塊サイズ5mm、重量平均分子量 $5.36 \pm 0.02 \times 10^5$) 70 kgを100l容スチール製ドラム缶に入れて110℃のオーブンで36時間加熱した改質アラビアガムをゲル濾過クロマトグラフィー (GPC-MALLS) にかけた結果を図1に示す。横軸の「Volume (ml)」はカラムを通過した溶出液の累積量を示し、また縦軸の「AUX, 90° Detector」は、各検出器の相対強度 (relative intensity) を示す。MALLS検出器で得ら

れるチャートは90°での光散乱強度を示したものであり、分子量の分布に相關する。R I 検出器で得られるチャートは屈折率の強さを示したものであり、各溶出レベルでの重量を示す。また、UVカーブは214nmで検出したUV吸収を示したものであり、蛋白質の分布を示す。R I 検出器で得られるチャートに基づいて、R I 検出器によって求められたクロマトグラム上のチャート全体（具体的にはチャートのベースラインを基線としてR I チャートの立ち上がり部を起点及び降下して基線と交わった部分を終点とした場合に、当該起点から終点までのチャート領域）1ピークとしてデータ処理した場合（processed as one peak）に得られた分子量が本発明でいう「重量平均分子量」（より詳細には「重量平均分子量（ M_{wt} processed as one peak）」）である。

【0026】

本発明の改質アラビアガムの重量平均分子量は好適には100万以上であればよく、特に制限されないが、好ましくは120万以上、より好ましくは150万以上、さらに好ましくは200万以上である。重量平均分子量の上限は、改質アラビアガムが総食物繊維を90重量%以上の割合で含み、水溶性である限りにおいて特に制限されないが、通常250万以下であることが好ましい。

【0027】

（2）食物繊維原料／食物繊維強化用添加物

本発明は、AOAC公定法による測定に基づいて総食物繊維を90重量%以上の割合で含む上記の改質アラビアガムについて、食品または医薬品に対して食物繊維を増強するために用いられる、食品原料または医薬品原料としての用途を提供するものである。具体的には、本発明は、飲食物や経口医薬品について食物繊維を増強するために用いられる経口摂取可能な可食性添加物、言い換えれば食物繊維原料または食物繊維強化用添加物を提供する。

【0028】

当該本発明の食物繊維原料または食物繊維強化用添加物は、上記本発明の改質アラビアガムだけからなるものであってもよいし、また上記本発明の改質アラビアガムを有効成分として、他に別途水溶性食物繊維や不溶性食物繊維、または食品衛生上若しくは薬学的に許容された担体や添加物を含有するものであってもよ

い。なお後者の場合、本発明の改質アラビアガムを少なくとも30重量%以上含むことが好ましい。

【0029】

ここで、改質アラビアガム以外の水溶性食物繊維としては、ペクチン、グァーアガム、サイリウム、ガラクトマンナン、キシログルカン、ローカストビーンガム、グルコマンナン、アルギン酸ナトリウム、コンドロイチン硫酸、低分子アルギン酸、低分子グァーガム、難消化性デキストリン、ポリデキストロース、プルラン、ファイパロン、コンドロイチン及び硫酸などが挙げられる。また不溶性食物繊維としては、セルロース、小麦ふすま、アップルファイバー、さつまいもファイバー、コーンファイバー、及びキチンなどが挙げられる。

【0030】

また、食品衛生上若しくは薬学的に許容された担体や添加物としては、特に制限されないが、デキストリン、乳糖、マルトース、トレハロース、グルコースなどの糖類、ソルビトール、マンニトールなどの糖アルコール、グリセリン、プロピレングリコールなどの多価アルコールを挙げることができる。

【0031】

当該食物原料または食物繊維強化用添加物は、飲食物や経口医薬品の食物繊維含量を増強するために、その製造過程で飲食物や経口医薬品の原料に一成分として配合されることにより用いられる。

【0032】

(3) 飲食物

本発明は、AOAC公定法による測定に基づいて総食物繊維を90重量%以上の割合で含む上記の改質アラビアガムを配合することによって、食物繊維含量が増強されてなる飲食物を提供する。当該飲食物は上記の改質アラビアガムに代えて、本発明の食物繊維原料または食物繊維強化用添加物を用いて調製することもできる。

【0033】

本発明が対象とする飲食物は、本発明の改質アラビアガムを含有することに基づいて、総食物繊維が増強されてなるものであれば、その種類やその改質アラビ

アガムや総食物繊維の含有量を特に問うではない。好ましくは、本発明の改質アラビアガムを1重量%以上、より好ましくは5重量%以上の割合で含有していることが望ましい。上限は特に制限されないが、本発明の改質アラビアガムをそのまま健康食品（機能性食品）として用いる（食する）ことができることに鑑みれば、100重量%である。

【0034】

飲食物の種類としては、制限されないが、清涼飲料、果汁飲料、乳飲料、乳酸菌飲料、炭酸飲料、野菜飲料、スポーツ飲料、紅茶飲料、緑茶飲料、粉末飲料、コーヒー飲料等の飲料類；プリン、ゼリー、ヨーグルト等のデザート類、チューインガム、チョコレート、ソフトキャンディー、ビスケット、クッキーなどの菓類；ドレッシング、ソース、ケチャップ等の調味料類；その他、ジャム類、麺類、水産練り製品、各種惣菜等の加工食品を挙げることができる。また、サプリメント（健康食品、機能性食品）として錠剤、カプセル剤、丸剤、またはドリンク剤などの形態として提供することもできる。

【0035】

本発明の飲食物は、多量 of 食物繊維を含むことによって、血中コレステロールの低下、便性改善、腸内環境を改善する整腸作用等の各種生理学的作用を有すると共に、改質アラビアガムの増粘性の低さに基づいて、多量に摂取しても食感を害せず、また下痢などの副作用を示さないという効果を有している。

【0036】

【実施例】

以下、本発明の内容を以下の実施例を用いて具体的に説明する。ただし、本発明はこれらの実施例に何ら制限されるものではない。尚、下記の実施例において、特に記載しない限り、「部」とは「重量部」を、また「%」とは「重量%」を意味するものとする。また各処方中、*は三栄源エフ・エフ・アイ（株）の製品であることを意味する。

【0037】

実験例1 改質アラビアガムの調製

(1) 改質アラビアガムの調製

粗挽きされたAcacia senegal種に属するアラビアガム（アラビアガム原料（A. senegal種）：Sample 1）（球塊サイズ5mm）1 kgを、ステンレス容器に入れて大気に放置し、110℃でそれぞれ24時間、及び48時間のオープン加熱した（24時間加熱処理したアラビアガムを「Sample1/24」、48時間加熱処理したアラビアガムを「Sample1/48」という）。

【0038】

（2）食物繊維含量

上記で得られたアラビアガムサンプル（Sample1、Sample1/24、Sample1/48）について、Prosky（AOAC）法に従って、総食物繊維含有量を測定した。

【0039】

具体的には、各試料1 gを2検体用意し、下記の手順に従って測定を行った。なお、2検体のうち、一方は非消化性蛋白質測定用、他の一方は灰分測定用に供する：

- ①試料1.0 gを0.1mgの精度で2点秤量し、それぞれ400ml容量のビーカーに入れる。
- ②各検体に0.08Mのリン酸緩衝液（pH6.0）50mlと耐熱性の α -アミラーゼ（Novo社製, thermamyl 120L）0.1mlを加え、ビーカー上部をアルミ箔で覆い、沸騰水浴中で5分ごと振盪しながら、ビーカーの内部温度が95℃に達してから30分間反応させる。
- ③室温まで冷却した後、0.275N水酸化ナトリウム水溶液10mlを加え、pH7.5±0.2に調整する。これにプロテアーゼ溶液〔プロテアーゼ〔シグマ社製、P3910〕を50mg/mlになるように0.08Mのリン酸緩衝液（pH6.0）に溶解したもの〕0.1mlを加え、ビーカー上部をアルミ箔で覆い、60℃水浴中で振盪しながら、中心部の温度が60℃に達してから30分間反応させる。
- ④室温まで冷却した後、0.325M塩酸水溶液10mlを加え、pH4.0～4.6に調整する。これにアミログルコシダーゼ溶液〔アミログルコシダーゼ〔シグマ社製、P-9913〕0.3ml〕を加え、ビーカー上部をアルミ箔で覆い、60℃水浴中で振盪しながら、中心部の温度が60℃に達してから30分間反応させる。
- ⑤予め秤量し、60℃に加温しておいた95%エタノール280mlを上記ビーカーの酵

素反応液 に加え、室温下、正確に60分間放置して沈殿を生成させる。

⑥セライト（セライト545;シグマ社製C-8656）入りのガラス濾過器に洗浄瓶を用いて78v/v%エタノールを注入し、セライトを懸濁させ、それを真空で引いて均一なマット状の濾過面をつくる。この濾過器にエタノールで生成した沈殿を含む酵素反応液を流し込み、吸引濾過する。残渣は78v/v%エタノール20mlで3回、95v/v%エタノール10mlで2回、及びアセトン10mlで2回、順次洗浄する。

⑦残渣の入った濾過器を真空オーブン（70℃）で一夜乾燥させ、デシケーター中で放冷後、0.1mgの精度で秤量し、濾過器とセライトの重量を差し引いて真の残渣量を算出する。

⑧2検体のうち、一方の残渣は、セライトとともに掻き取って残渣中の窒素含量をセミミクロケルダール法によって定量し、換算係数6.25を乗じて蛋白質含量を求める。他方の残渣は525℃で5時間灰化し、デシケーター中で放冷後、0.1mgの精度で秤量し、残渣中の灰分含量を求める。

⑨なお、試料を加えずに、上記②以降の操作を同様に実施し、ブランク残渣、ブランク蛋白質量、ブランク灰分量を求める。

得られた値から、下式に基づいて、総食物繊維含量%を求める。

【0040】

【化1】

$$\text{総食物繊維含量\%} = \frac{\text{残渣 mg} - \left\{ \left[\frac{\text{残渣蛋白質\%} + \text{残渣灰分\%}}{100} \right] \times \text{残渣 mg} \right\} - \text{ブランク}}{\text{試料 mg}} \times 100$$

$$\text{残渣蛋白質\%} = \left[\frac{\text{残渣蛋白質含量 mg}}{\text{残渣 mg}} \right] \times 100$$

$$\text{残渣灰分\%} = \left[\frac{\text{残渣灰分含量 mg}}{\text{残渣 mg}} \right] \times 100$$

$$\text{ブランク} = \text{ブランク残渣 mg} - \left\{ \left[\frac{\text{ブランク蛋白質\%} + \text{ブランク灰分\%}}{100} \right] \times \text{ブランク残渣 mg} \right\}$$

$$\text{ブランク蛋白質\%} = \left[\frac{\text{ブランク蛋白質含量 mg}}{\text{ブランク残渣 mg}} \right] \times 100$$

$$\text{ブランク灰分\%} = \left[\frac{\text{ブランク灰分含量 mg}}{\text{ブランク残渣 mg}} \right] \times 100$$

【0041】

(3) 重量平均分子量の測定

上記で得られたアラビアガムサンプル (Sample1、Sample1/24、Sample1/48) について、下記条件のGPC-MALLS (Multi Angle Laser Light Scattering) 法に従って、ゲル濾過クロマトグラフィーにかけクロマトグラムを得た。

カラム : Superose(6HR) 10/30 (Pharmacia Biotech)

流速 : 0.5 ml/分

溶出溶媒 : 0.2 M NaCl

試料の調製：分析試料を溶出溶媒（0.2M NaCl）にて希釈

試料濃度 : 0.4 % (W/V)

試料液注入量 : 100 μ l

dn/dc : 0.141

温度 : 室温

検出器 : ① MALLS (multi angle laser light scattering) : DAWN DSP (Wyatt Technology 社製)、② RI (屈折率)、③ UV (214nmでの吸収)。

【0042】

上記条件で測定して得られたデータをASTRA Version 4.5 (Wyatt Technology) ソフトウェアにて処理することにより、重量平均分子量を求めた。具体的にはRI検出器によって求められたクロマトグラム上のチャート全体（具体的にはチャートのベースラインを基線としてRIチャートの立ち上がり部を起点及び降下して基線と交わった部分を終点とした場合に、当該起点から終点までのチャート領域）を1ピークとしてデータ処理した場合 (processed as one peak) に、得られた分子量が本発明でいう「重量平均分子量」（より詳細には「重量平均分子量 (M_{wt} processed as one peak)」) である。

【0043】

アラビアガムサンプル (Sample1、Sample1/24、Sample1/48) の総食物繊維含量と重量平均分子量を表1に示す。

【0044】

【表1】

サンプル	重量平均分子量	重量平均分子量 の増加量(%)	総食物繊維含量 (AOAC) %	総食物繊維含量 の増加量(%)
Sample1	$5.15 \pm 0.18 \times 10^5$	100	84.0	100
Sample1/24	$1.15 \pm 0.21 \times 10^6$	223.3	90.0	107.1
Sample1/48	$1.91 \pm 0.17 \times 10^6$	370.8	91.0	108.3

【0045】

これらの結果から、本発明の改質アラビアガムは、未処理のアラビアガムの総食物繊維含量100重量%に比して、総食物繊維含量が7.1重量%及び8.3重量%増

加していた。さらに重量平均分子量が約123%及び270%増加していた。

【0046】

実験例2 改質アラビアガムの免疫反応

実験例1で得られた*A. senegal*種に属するアラビアガムサンプル (Sample1, Sample1/24及びSample2/48) の各々について免疫反応性を評価した。免疫反応性は、具体的には各アラビアガム (濃度; 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5 mg/ml) で固定化したプレートを用いてThurston, M. I.らの文献 [Thurston, M. I, et al., Detection of gum from *Acacia seyal* and species of *combretum* in mixtures with *A. senegal* using monoclonal antibodies, Food & Agric. Immunol., 10 : 237-241(1998)、Thurston, M. I, et al., Effect of heat and pH on carbohydrate epitopes from *Acacia senegal* by specific monoclonal antibodies, Food & Agric. Immunol., 11 : 145-153(1999)] に記載された方法に従って間接的競合ELISA法を行うことで評価した。

【0047】

ELISA法に先立って、まずアラビアガムの種に特異性を示すことなく定量的に交差性を示すモノクローナル抗体を作製した。具体的にいうと、*A. senegal*種のアラビアガムを1mg/ml含有した生理食塩水にアジュバンドを混合し、Balb/cマウスの腹腔内に2週間間隔で3度免疫した。抗体力価の上がったマウスの脾臓細胞を採取し、ミエローマ細胞とポリエチレングリコールで融合した。培養プレートで10日間培養し、増殖した融合細胞の上清に産生された抗体の特異性を指標に、融合細胞を選択した。次いで、この融合細胞を再度、培養プレートで10日間培養し、同様に融合細胞を選択し、最終的に上記の特異性を示す抗体SYCC7のみを産生する融合細胞を選択した。

【0048】

新しく調製した抗体SYCC7を用いて、下記に示すようにELISA法を行った。

- ①3種の試料 (Sample1, Sample 1/24, Sample1/48) の1mg/mlおよび5mg/mlの溶液を3段階に10倍希釈する。
- ②プラスチックプレートのウェルに、これらの溶液を200 μ lずつ添加し、1時間

、4℃ で保存固定化した。生理食塩水で洗浄後、0.3%カゼイン含有した生理食塩水でブロッキングを行った後、0.05%Tween 20含有生理食塩水で洗浄する。

③上記で調製した融合細胞の培養上清を添加し、1時間、固定化した。前と同様に洗浄後、生理食塩水で1000倍希釈したペルオキシダーゼ標識ヤギ抗マウス抗体 (SIGMA) を添加し、1時間固定化する。

④洗浄後、基質としてテトラメチルベンジジンを添加し、発色を450nmで吸光度にて測定する。

【0049】

なお、各濃度の試料の阻害率は、*A. senegal*種に属するアラビアガム原料（未処理のアラビアガム）の発色度を阻害率100%として表示した。

【0050】

その結果、本発明の改質アラビアガムは、試験したいずれの濃度においてもアラビアガム原料と免疫学的阻害率の差が±10%以内であり、ほとんど差がなく、アラビアガム原料と免疫学的反応において実質的に同様もしくは類似であることが示された。

【0051】

実施例1 アラビアガムパウダーの調製

実験例1で得られた改質アラビアガムは、下記の方法によりアラビアガムパウダーとして調製することができ、さらにこれを用いることによって実施例2～4に示すように各種の飲食物を調製することができる。

【0052】

<改質アラビアガムパウダー>

改質アラビアガム (Sample1/24) 1000gを水1500gに溶解し、アラビアガム水溶液を調製する。この溶液をスプレードライヤー (ANHYDRO社製) (インレット 140℃、アウトレット 80℃) にて噴霧乾燥し、改質アラビアガムパウダー950gを調製する。

【0053】

実施例2 果汁入り清涼飲料 (Brix10°)

下記の成分を混合した後、ジュース瓶に充填し、85℃で30分殺菌して、果汁入

り清涼飲料を調製する。

<処方>

果糖ぶどう糖液糖 (Brix75°)	13.3 (重量%)
クエン酸	0.1
クエン酸ナトリウム	0.05
ビタミンC	0.05
5倍濃縮柑橘混合透明果汁	6.0
改質アラビアガムパウダー (実施例1)	3.0
水	77.5
合 計	100.0 (重量%)。

【0054】

実施例3 ハードキャンディー

<処方>

砂糖	59.0 (重量%)
水飴	40.0
水	20.0
改質アラビアガムパウダー (実施例1)	1.0
クエン酸	0.4
L-アスコルビン酸	0.01
パイナップル香料	0.15
合 計 (調製後)	100.0 (重量%)

砂糖、水飴および水を混合して155℃まで加熱し、溶解する。これを125℃まで冷却し、改質アラビアパウダー、クエン酸、L-アスコルビン酸、及びパイナップル香料を順に添加混合して、成型し、ハードキャンディーを調製する。

【0055】

実施例4 サプリメント (食物繊維)

下記の成分を粉体混合し、打錠機(打錠圧 1トン)にて、サプリメント (錠剤) を調製する。

改質アラビアガムパウダー (実施例1)	30 (重量%)
---------------------	----------

ソルビトール	69
<u>シヨ糖脂肪酸エステル</u>	<u>1</u>
合 計	100 (重量%)

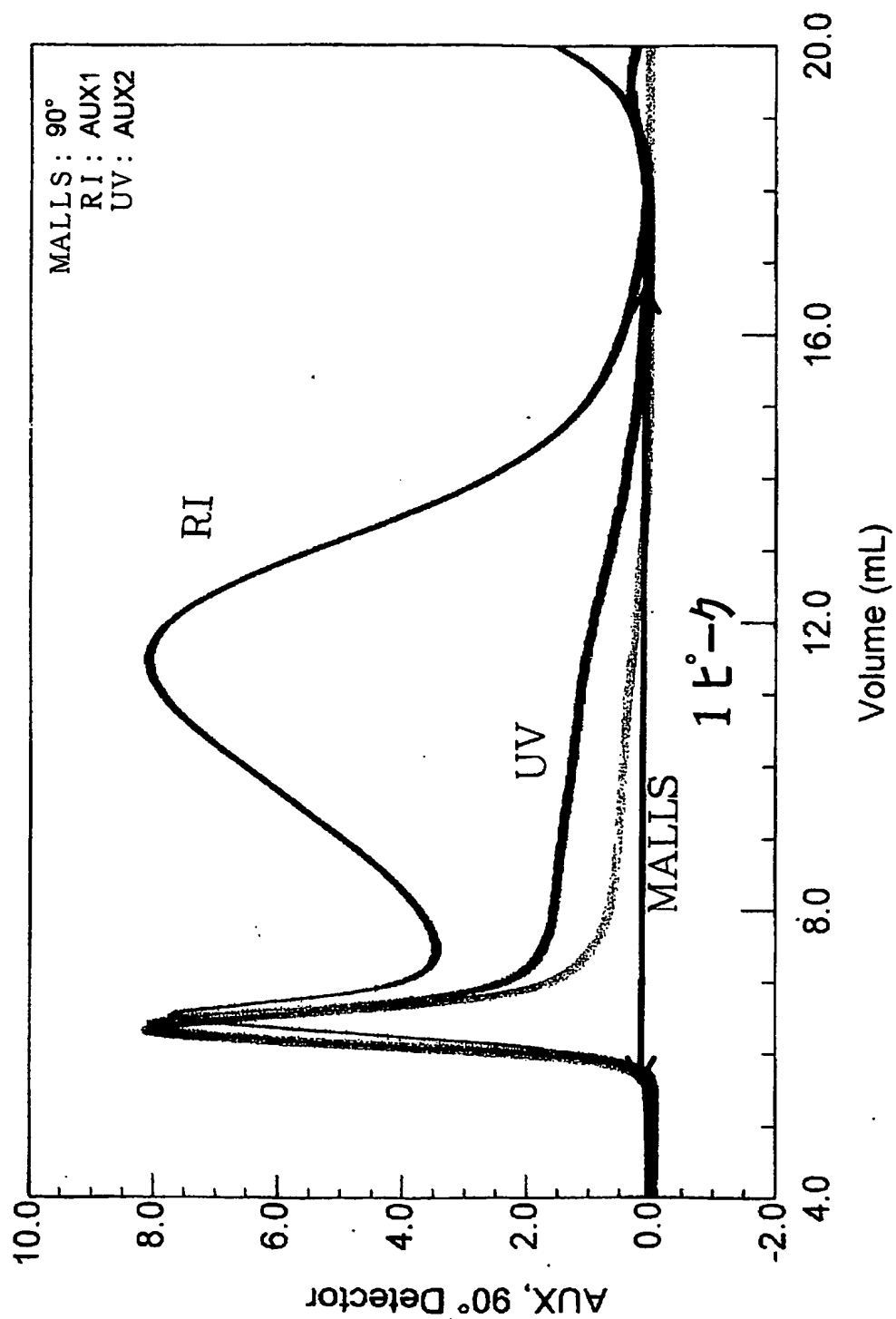
【図面の簡単な説明】

【図1】 アラビアガム原料(A. senegal種)(球塊サイズ5mm、重量平均分子量 $5.36 \pm 0.02 \times 10^5$) 70kgを100l容スチール製ドラム缶に入れて110℃のオーブンで36時間加熱して調製した改質アラビアガムを、GPC-MALLS法に従って、ゲル濾過クロマトグラフィーにかけて得られたクロマトグラムを示す。

【書類名】

図面

【図 1】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 総食物繊維含量を増加してなる改質アラビアガム、並びにその用途を提供する。

【解決手段】 アラビアガムを加熱することによって、総食物繊維含量（AOAC法）が90%以上、好ましくは更に重量平均分子量が100万以上である改質アラビアガムを取得する。また、当該改質アラビアガムを食品や経口医薬品の食物繊維原料または食物繊維強化用添加物として用いる。

【選択図】 なし

特願 2003-105903

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000175283]

1. 変更年月日

2002年10月16日

[変更理由]

住所変更

住 所

大阪府豊中市三和町1丁目1番11号

氏 名

三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

出願人履歴情報

識別番号

[503129109]

1. 変更年月日

2003年 4月 7日

[変更理由]

新規登録

住 所

イギリス国 ロンドン ダブリュ1エス 4エーキュー オー
ルドボンドストリート 45

氏 名

フィリップス ハイドロコロイド リサーチ リミテッド